

Ferritin ELISA KIT
 کیت کمی تعیین Ferritin در سرم یا پلاسما
 REF 1029 IVD چاهک ۹6%

لطفا قبل از انجام آزمایش بروشور کیت به طور کامل و با دقت مطالعه شود.
از دستورالعمل های انجام آزمایش کیت پیروی کنید و آن ها را تغییر ندهید. فقط با رعایت کامل این دستورالعمل ها می توان از کیت الایزا Ferritin Gold Medi Test Plus نتایج درست و صحیح بدست آورد.

هدف از استفاده:

کیت Ferritin Gold Medi Test Plus به روش الایزا جهت اندازه گیری کمی Ferritin در نمونه سرم/ پلاسما انسان کاربرد دارد.
این کیت فقط برای IVD (In Vitro Diagnostic) و جهت استفاده در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی کاربرد دارد .

.

.

.

ساختار و نقش فیزیولوژیک :
فریتین با وزن مولکولی450 کیلو دالتون پروتئین اصلی ذخیره کننده آهن در درون سلول می‌باشد که برای اولین بار توسط Lauffberger در سال 1937 جدا و کریستاله شد. این پروتئین از 24 زیر واحد سنگین و سبک تشکیل شده است که با یکدیگر پوشش توخالی را ایجاد می‌کنند، این مولکول می‌تواند حداکثر تا 4000 اتم آهن سه ظرفیتی (Fe³⁺) را به صورت ترکیب غیرآلی در بخش مرکزی ساختمان خود جای دهد و از همین طریق از اثرات سمی آهن غیرمتصل (Fe²⁺) محافظت کند. لذا توانایی فریتین در ذخیره آهن نقش دوگانه، شامل مسمومیت زدایی و ذخیره آن دارد. این مولکول که حمل حدود 1% آهن پلاسما را به عهده دارد، عمدتاً در سلول های بافت کبد، طحال و مغز استخوان یافت می‌شود. میزان فریتین در بدو تولد بالا بوده و به تدریج کاهش می یابد و در دوران کودکی در همان سطح باقی می ماند، پس از بلوغ میزان آن شروع به افزایش می کند و در آقایان بیشتر از خانم ها خواهد بود. اندازه گیری فریتین در تشخیص بیماری کم خونی ناشی از فقر آهن و کنترل درمان، شاخص بسیار دقیق و حساسی است و در شرایط پر خطر نظیر بارداری، دیالیز و دهنندگان حرفه ای خون توصیه می شود، میزان فریتین در برخی از بیماری ها نظیر هموکروماتوز ، آنمی ناشی از بیماری های مزمن، آنمی همولیتیک نظیر تالاسمی، بیماری های کبدی، بدخیمی ها و التهابات افزایش می یابد.

اساس آزمایش:

طراحی کیت فریتین بر اساس روش ایمنوآنزیماتیک ساندویچی با استفاده از آنتی بادی‌های مونوکلونال می‌باشد. در این روش آنتی‌ژن مورد سنجش همزمان با معرف کونژوگه که حاوی دو نوع آنتی بادی علیه فریتین که یکی کونژوگه با بیوتین و دیگری با HRP است ، فریتین را از دو جایگاه متفاوت شناسایی می کند، به چاهک های حاوی استرپتواویدین اضافه می شود. فریتین مورد سنجش بین دو آنتی‌بادی بصورت ساندویچ در آمده و مجموعه از طریق بیوتین به استرپتواویدین چاهک متصل می‌شود. پس از شستشو و خارج کردن آنالیت های غیر متصل به آنتی بادی ته چاهک، با افزودن سوپستر-ا رنگزا (TMB)، رنگ آبی ایجاد می‌شود. با اضافه نمودن محلول متوقف کننده رنگ آبی به زرد تبدیل می‌شود. شدت رنگ ایجاد شده با غلظت Ferritin ارتباط مستقیم دارد.

قرائت نتایج با استفاده از دستگاه الایزا ریدر در طول موج 450 نانومتر (با فرانس 630 نانومتر) انجام می گیرد.

۱

Gold medi test plus

E I A D I A G N O S T I C K I T
THE EIA DIAGNOSTIC KIT FOR 96 TESTS

محتویات کیت:

1.پلیت: یک پلیت، دارای 96 چاهک پوشش داده شده با آنتی بادی علیه Ferritin
در پوشش آلومینیومی همراه با رطوبت گیر بسته بندی شده است.
چاهک ها یا نوارهای استفاده نشده را همراه با رطوبت گیر در کیسه پلاستیکی زیپ دار که برای نگهداری آن ها تدارک دیده شده است قرار دهید و در یخچال به دمای 2-8 درجه سانتیگراد برگردانید.
پلیت پس از باز شدن، به مدت 2 ماه در دمای 2-8 درجه سانتیگراد پایدار است.
2.سری استانداردها: کیت شامل هفت ویال استاندارد آماده مصرف حاوی آنالیت Ferritin با غلظت های مشخص شده بر روی برچسب ویال در بافر حاوی پروتئین می باشد.
حجم تمامی استاندارد ها 0.5ml می باشد.
3.سرم کنترل ها (Control Serums) : کیت حاوی یک ویال سرم کنترل پایین (Low control) و یک ویال سرم کنترل بالا (High control) با حجم 0.5ml و با غلظت مشخص شده بر روی برچسب ویال می باشد.ویال های کنترل آماده مصرف می باشند.
4.کونژوگه - HRP (کونژوگه با HRP در بافر پروتئینی به همراه نگهدارنده): محلول قرمز رنگ کونژوگه نشاندار شده با آنزیم HRP ، با حجم 12ml و آماده مصرف می باشد. پس از باز شدن درب ویال به مدت 2 ماه در دمای 2-8 درجه سانتیگراد پایدار می باشد.

5.محلول سوپستر-ا رنگزا (TMB Substrate) : محلول سوپستر-ا رنگزا حاوی تترامتیل بنزدین و آب اکسیژنه، مایعی بی‌رنگ، با حجم 12ml آماده مصرف بوده و پس از باز شدن درب ویال به مدت 2 ماه در دمای 2-8 درجه سانتیگراد پایدار است.
6.بافر شستشو (Wash Buffer) : مایعی بی رنگ با حجم 30ml می باشد. قبل از استفاده باید با آب مقطر یا آب دیونیزه به نسبت 1 به 20 رقیق شود. پس از رقیق سازی به مدت یک هفته در دمای اتاق، یا به مدت 2 ماه در صورت نگهداری در دمای 2-8 درجه سانتیگراد پایدار است.

7.محلول متوقف کننده واکنش (Stop Solution) : مایعی بی رنگ که حاوی محلول اسید کلریدریک رقیق شده 1مولار و آماده مصرف با حجم 6ml می باشد . پس از باز شدن درب ویال، به مدت 2 ماه در دمای 2-8 درجه سانتیگراد پایدار است.

8. یک عدد کیسه پلاستیکی زیپ دار : جهت نگهداری نوارهای استفاده نشده
9. دو برگ برچسب : مخصوص پلیت جهت پوشاندن چاهک ها در مدت انکوباسیون و جلوگیری از تبخیر یا آلودگی چاهک
10. بروشور کیت

مواد و وسایل لازم که در کیت موجود نمی باشند:

1-سمپلرهای25، 50، 100 و 200میکرولیتری دقیق(درصورت امکان سمپلر 8 کاناله با قابلیت برداشت 25 تا 200 میکرولیتر و یا دیسپنسر اتوماتیک)
2-آب مقطر یا آب دیونیزه تازه (ترجیحا با هدایت الکتریکی مطلوب)
3-دستگاه خوانشگر پلیت دارای فیلتر 450 نانومتری و 630 نانومتری به عنوان فیلتر رفرانس
4-دستمال جاذب رطوبت یا پارچه تمیز
5-دستگاه واشر اتوماتیک یا هر تجهیز دیگر نظیر سمپلر 8 کاناله که قادر به ریختن 350 میکرولیتر محلول شستشو باشد. (سیستم آسپیراسیون / شستشوی چاهک)
6-دستکش یک بار مصرف
7-تایلر
8-ظروف زباله مناسب برای مواد بالقوه آلوده شده
9-سر سمپلر یک بار مصرف

احتیاط و ایمنی:

1.آزمایش های الایزا به زمان و دما حساس هستند. برای پرهیز از ایجاد نتایج اشتباه، دقیقا از مراحل روش آزمایش بدون اعمال تغییر پیروی کنید.
2.معرف های مربوط به شماره ساخت های مختلف را با یکدیگر استفاده ننمایید و همچنین از استفاده محلول های کیت تجاری دیگر پرهیز نمایید.
محتویات این کیت دقیقا برای اجرای آزمایش به نحوه مطلوب فقط برای همین کیت فراهم شده اند.
3.مطمئن شوید که تمام معرف ها براساس آنچه برروی کیت و برای یک شماره ساخت بیان شده معتبر باشد. هرگز از معرف ها بعد از تاریخ انقضایی که برروی برچسب یا جعبه بیان شده استفاده نکنید.
4.توجه-مرحله مهم: اجازه دهید معرف ها و نمونه ها قبل از استفاده به دمای اتاق (30-18 درجه سانتیگراد) برسند. معرف ها را قبل از استفاده به آرامی تکان دهید. پس از استفاده فوراً به 2-8 درجه سانتیگراد بازگردانید.
5.آنگونه که در مراحل روش آزمایش بیان شده است، فقط از حجم کافی نمونه استفاده کنید. زیرا در غیر این صورت از حساسیت آزمایش کاسته خواهد شد.
6.کف خارجی چاهک ها را با دست لمس نکنید، اثر انگشت یا خراش می تواند در خواندن نتایج اختلال ایجاد نماید. در هنگام خواندن نتایج آزمایش از خشک بودن کف پلیت و فقدان حباب های هوا در داخل چاهک ها اطمینان حاصل نمایید.
7.هرگز نگذارید چاهک ها بعد از مرحله شستشو خشک شوند. فوراً مرحله ی بعدی را آغاز کنید. موقع افزودن معرف ها از تشکیل حباب های هوا اجتناب کنید.
8.از وقفه های طولانی مدت در مراحل آزمایش اجتناب کنید. از یکسان بودن شرایط کاری برای همه چاهک ها اطمینان حاصل کنید.
9.سمپلرها را در زمان مشخص کالیبر نمایید تا از درستی حجم نمونه ها/ معرف هایی که توزیع می کنید مطمئن شوید. از سرسمپلرهای جداگانه یک بار مصرف برای نمونه و معرف ها استفاده کنید تا از آلودگی های متقاطع جلوگیری شود.
10.هنگام افزودن نمونه ها، سرسمپلر با ته چاهک تماس پیدا کنند.
11.هنگام سنجش با خوانشگر پلیت ،جذب را در طول موج 450 نانومتر یا در 450/630 نانومتر اندازه گیری نمایید.
12.فعالیت آنزیمی HRP-کونژوگه ممکن است تحت تاثیر گرد و غبار و مواد شیمیایی فعال و موادی مثل هیپوکلریت سدیم، اسیدها، قلیاها و غیره قرار گیرد. آزمایش را در حضور این مواد انجام ندهید.
13.اگر از دستگاه تمام اتوماتیک استفاده می کنید، طی انکوباسیون پلیت ها را با برچسب مخصوص پلیت نپوشانید، همچنین می توان بعد از شستشو از خارج کردن ذرات باقیمانده داخل پلیت به وسیله ضربه آرام صرف نظر کرد.
14.فقط برای مصرف آزمایشگاهی (For In vitro diagnostic use) و توسط افراد حرفه ای صلاحیت دار می باشد.
15.همه نمونه های با منشاء انسانی باید بالقوه عفونی در نظر گرفته شوند. پیروی دقیق از مقررات GLP می تواند موجب اطمینان از ایمنی فردی شود.
16.به هنگام انجام آزمایش و جابجایی محلول ها از رویوش آزمایشگاه ، دستکش یک بار مصرف و وسایل حفاظت فردی استفاده کنید.
17.تمام معرف ها و مواد باقیمانده را با رعایت اصول ایمنی و مقررات قابل اجرا مدیریت نموده و امحا نمایید.

هشدار: ممکن است در تهیه کنترل های کیت از موادی با منشاء انسانی استفاده شده باشد. این مواد با کیت های آزمایشگاهی دارای عملکرد قابل قبول آزمایش شده و نتیجه آزمایش برای وجود آنتی بادی های anti-HCV ، anti-HB^s Ag و HIV^۱/_۲ منفی بوده اند. اما هیچ روش آنالیتیکی وجود ندارد که بتواند از فقدان کامل عوامل عفونی در نمونه ها یا معرف ها اطمینان دهد. لذا تاکید می گردد با معرف ها و نمونه ها همچون عوامل انتقال دهنده بیماری های عفونی و با احتیاط بسیار رفتار کنید.
آلبومین سرم گاوی (BSA) و سرم های جنین گوساله (FCS) از حیواناتی از مناطق جغرافیایی BEST/TCS free گرفته شده اند.

18.با مواد شیمیایی و بیولوژیک باقیمانده مطابق با مقررات جاری GLP و مقررات محلی یا ملی رفتار نمایید.

19.قبل از دفع پسماندهای آلوده برای آلودگی زدایی؛ سر سمپلرها، ویال ها، نوارها و ظروف نمونه را جمع آوری کرده و حداقل به مدت 2 ساعت در دمای 121 درجه سانتیگراد اتوکلاو نموده یا به مدت 30 دقیقه در هیپوکلریت سدیم 10% قرار دهید. محلول های حاوی هیپوکلریت سدیم هرگز نباید اتوکلاو شوند. در صورت درخواست به برگه اطلاعات ایمنی مواد (MSDS) مراجعه شود.
20.هرگز در آزمایشگاه چیزی نخورید، نیاشامید، سیگار نکشید و لوازم آرایش به کار نبرید. هرگز محلول ها را با دهان پیت نکنید.

21.برخی از معرف ها از جمله محلول متوقف کننده واکنش، محلول های رنگزا و بافر شستشو بصورت مواد خام ممکن است سمی، التهاب زا، سوزاننده و یا اثر سرطان زایی داشته باشند. از تماس پوست یا مخاط با این معرف ها اجتناب شود.
22.محلول متوقف کننده واکنش، اسید کلریدریک (HCl) 1مولار (1M) است. با احتیاط از آن استفاده کنید. در صورت تماس با پوست یا چشم ها با آب فراوان شستشو دهید.

23.(0.1%ProClin™3000 که به عنوان نگهدارنده استفاده شده است، می تواند باعث حساسیت پوستی شود. در صورت تماس با پوست یا چشم ها با آب فراوان شستشو دهید.

24.جهت کاهش پدیده تأخیری، با توجه به غلظت بالای محلول آنزیم کونژوگه شده به آنتی بادی ضد Ferritin ، ضرورت دارد تعداد نمونه ها در تست حداکثر 3 ردیف باشد.

جمع آوری، حمل و نقل و نگهداری نمونه:

•جمع آوری نمونه:

1.از نمونه های جمع آوری شده از سرم و یا پلاسمای حاوی EDTA می بایست استفاده کرد.

2.از نمونه های لیپمیک، ایکتریک و همولیز نباید استفاده شود زیرا این نمونه ها می توانند موجب نتایج کاذب شوند. نمونه ها را توسط حرارت غیرفعال نکنید. این کار می تواند باعث افت آنتی ژن مورد نظر گردد. از نمونه های با آلودگی میکروبی قابل روبیت هرگز نباید استفاده شود.

•حمل و نقل و نگهداری نمونه:

1.از انجماد و ذوب کردن مکرر نمونه ها بیش از 2 بار جلوگیری شود. نمونه های منجمد باید قبل از آزمایش به آرامی و به طور کامل مخلوط شده تا کاملاً یکنواخت و همگن گردند.

2.کیت Ferritin Gold Medi Test Plus فقط برای آزمایش کردن نمونه های سرم یا پلاسما در نظر گرفته شده است. از این کیت برای آزمایش کردن نمونه جسد، بزاق، ادرار، خون مخلوط شده و یا سایر مایعات بدن استفاده نکنید.

3.نمونه ها را در دمای 2-8 درجه سانتیگراد نگهداری کنید. اگر آزمایش نمونه ها در فاصله 24 ساعت پس از نمونه گیری انجام نمی شود؛ جهت جلوگیری از آلودگی باکتریایی، نمونه ها را در فریزر و در دمای 20- تا 80- درجه سانتیگراد نگهداری نمایید. جهت ارسال و انتقال نمونه باید مطابق با مقررات محلی و بین المللی موجود برای حمل و نقل نمونه های بالینی و عوامل بیولوژیک عمل نموده و بسته بندی و برچسب گذاری مناسب انجام شود.

نگهداری و پایداری:

1.در صورت نگهداری در دمای 2-8 درجه سانتیگراد محتویات کیت تا تاریخ انقضای نوشته شده بر روی برچسب و جعبه کیت پایدار خواهند بود. از انجماد کیت یا اجزاء کیت خودداری نمایید.

2.محلول شستشو بهتر است روزانه و تازه تهیه شود و در همان روز مصرف شود.

3.تغییر در خصوصیات فیزیکی معرف ها؛ نظیر وجود ذرات معلق در آنها اغلب حاکی از آلودگی و خرابی معرف ها می باشد.

4.محلول سوپستر-ا رنگزا باید بی رنگ باشد. وجود رنگ آبی در این محلول نشان از خرابی و آلودگی آن دارد و قابل استفاده نمی باشد.

5.اجزاء کیت ها با سری ساخت متفاوت نباید با یکدیگر استفاده شوند و از جابه جایی درب معرف ها پرهیز شود.

نشانه های ناپایداری (افت) معرف ها:
خارج شدن مقادیر کنترل های High و Low کیت از محدوده ی ادعایی بیان شده، نشان دهنده احتمال افت معرف ها و یا خطای اپراتور یا تجهیزات مورد استفاده است. در چنین مواردی باید نتایج را نامعتبر در نظر گرفت و نمونه ها را دوباره آزمایش نمود. در صورتی که همچنان نتایج اشتباه بدست آید وعلت آن افت یا ناپایداری معرف ها باشد، معرف ها را با معرف جدید فوراً جایگزین کنید یا برای دریافت راهنمایی بیشتر با پشتیبان فنی Gold Medi Test Plus تماس بگیرید.

آماده سازی معرف ها:

•اجازه دهید کیت و معرف ها به دمای اتاق (30-18 درجه سانتیگراد) برسند.

•تهیه محلول شستشو: برای تهیه محلول شستشو، یک حجم از بافر شستشو غلیظ (20X) را با 19 حجم آب مقطر یا آب دیونیزه رقیق نمائید. محلول شستشو به مدت یک هفته در دمای اتاق پایدار است.

•بافر شستشوی غلیظ را از نظر وجود کریستال نمک بررسی کنید. در صورت وجود کریستال با گرم کردن در 37 درجه سانتیگراد آنها را حل کنید.

•سایر معرف ها آماده مصرف هستند.

مراحل انجام آزمایش:

مرحله 1- آماده سازی : دو چاهک برای کنترل بالا و پایین و هفت چاهک جهت استانداردها و به تعداد بیماران چاهک در نظر بگیرید و مابقی چاهک ها را به همراه رطوبت گیر درون کیسه مخصوص قرار داده و درب آن را ببندید. پیشنهاد می گردد استانداردها را به صورت دوتایی آزمایش کنید.

مرحله 2-افزودن نمونه: 20 میکرولیتر از نمونه ها، استانداردها و کنترل ها درون چاهک ها اضافه نمایید.

توجه: برای هر یک از استانداردها ،کنترل ها و نمونه ها از سر سمپلر جداگانه استفاده شود تا از آلودگی جلوگیری گردد.

مرحله 3-افزودن کونژوگه - HRP : 200 میکرولیتر از کونژوگه - HRP را به تمامی چاهک ها اضافه نموده و پلیت را به مدت 30 ثانیه به آرامی و به صورت ضربه ای شیک نمایید.

مرحله 4- انکوبه کردن: پلیت را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده و به مدت 45 دقیقه در دمای اتاق (18-30 درجه سانتیگراد) انکوبه نمایید.

مرحله 5- شستشو: پلیت را 5مرتبه و با حجم 300-350 میکرولیتر شستشو دهید. در هر مرحله اجازه دهید محلول شستشو به مدت 20-40 ثانیه درون چاهک ها باقی بماند. در انتهای شستشو با ضربه زدن آرام پلیت بر روی دستمال نمگیر یا کاغذ جاذب ، رطوبت باقی مانده را خارج نمایید.

مرحله 6 - ایجاد رنگ : 100 میکرولیتر از محلول سوپستر-ا رنگزا (TMB) به کلیه چاهک ها اضافه نمایید.

مرحله 7-انکوباسیون: پلیت را به مدت 15دقیقه دردمای اتاق و به دور از نورانکوبه نمایید. واکنش آنزیماتیک بین رنگزا و HRP باعث ایجاد رنگ آبی در چاهک های استاندارد (به جز استاندارد صفر) و نمونه های حاوی Ferritin می شود.

مرحله 8-اضافه کردن محلول متوقف کننده واکنش: 50میکرولیتر از محلول متوقف کننده واکنش را با استفاده از سمپلر چند کاناله یا به روش دستی به همه چاهک ها اضافه نمایید و به آرامی مخلوط کنید. رنگ آبی بعد از افزودن محلول متوقف کننده به رنگ زرد تغییر خواهد کرد.

مرحله 9 - خوانش : پلیت را با فیلتر 450 نانومتر و فیلتر رفرانس 630 نانومتر خوانش نمایید. (توجه: مقدار جذب نوری را حداکثر تا 10 دقیقه پس از توقف واکنش اندازه گیری نمایید.)

روش شستشو:

.

•برای دستیابی به نتایج درست و دقیق، روش شستشوی مناسب ضروری است. بنابراین توصیه می شود از یک دستگاه شستشو کننده پلیت الایزا با کیفیت خوب استفاده کنید. برای پیشگیری از ایجاد واکنش های مثبت کاذب و رنگ زیاد زمینه، توصیه می شود شستشو در هر مرحله از روند آزمایش ، به تعداد 5 مرتبه با حجم 300 تا 350 میکرولیتر محلول شستشو ترجیحا توسط سیستم اتوماتیک در هر چاهک انجام شود.

.

•بعد از انکوباسیون، برای جلوگیری از آلودگی های متقاطع پلیت با نمونه ها یا کونژوگه - HRP، محتویات چاهک ها را دور نریزد بلکه اجازه دهید دستگاه شستشو کننده پلیت (ELISA Washer) ، به طور اتوماتیک آنها را آسپیره کند.

•مطمئن شوید که کانال های توزیع کننده مایع در شستشو کننده پلیت، گرفتگی یا آلودگی نداشته باشند و حجم کافی از بافر شستشو هر بار در چاهک ها ریخته شود.

•بافر شستشوی غلیظ را قبل از استفاده باید به نسبت 1/20 رقیق کرد. اگر از همه چاهک های یک پلیت استفاده نمی کنید، حجم متناسبی از محلول را تهیه نمایید.

۶

۵

۴

۳

۲

محاسبه نتایج :

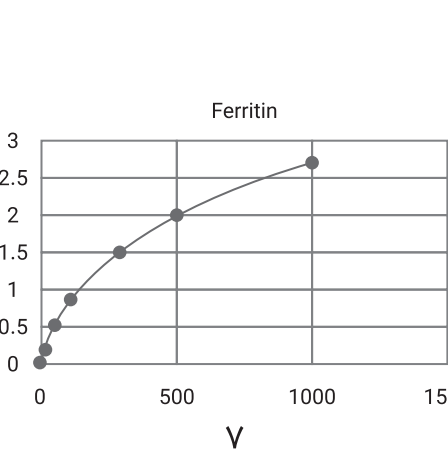
جذب نوری استانداردها و نمونه ها را به کمک دستگاه خوانشگر الایزا در طول موج 450 و 630 نانومتر خوانش نمایید.

با استفاده از میانگین جذب نوری استانداردها وغلظت آن ها، نمودار نقطه- به- نقطه (Point-to-point) رسم کنید. به طوری که جذب نوری استاندارد روی محور عمودی Y و غلظت آن روی محور افقی X برده و نقطه تلاقی غلظت و جذب نوری را برای هر استاندارد به دست آورده و سپس به یکدیگر وصل نموده و منحنی استاندارد را از طریق ترسیم خطوطی که از نقاط تلاقی محورهای Y وX عبور کرده باشد، رسم کنید تا منحنی به دست آید.

•میانگین جذب نوری برای هر نمونه را بدست آورده و روی محورY جای آن را پیدا کنید. سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی وصل کنید. از نقطه به دست آمده خطی عمود بر محورافقی X وارد کنید تا نقطه تلاقی که نشان دهنده غلظت نمونه است، به دست آید.

•در صورتی که ازاسپکتروفتومتر مخصوص میکروپلیت استفاده می کنید جهت محاسبه نتایج و ترسیم منحنی کالیبراسیون به دستورالعمل دستگاه مراجعه نمایید.

غلظت (ng/ml)	جذب نوری (OD)	نمونه
0	0.03	استاندارد A
10	0.08	استاندارد B
50	0.34	استاندارد C
100	0.65	استاندارد D
250	1.25	استاندارد E
500	1.80	استاندارد F
1000	2.53	استاندارد G



کنترل کیفی:

تست در صورتی تایید می گردد که:

- جذب نوری استاندارد صفر کمتر از 0.09 باشد.
- جذب نوری استاندارد آخر بیش از 1.4 باشد. همچنین خوانش کنترل های پایین و بالای کیت در محدوده مورد قبول باشد.
- خوانش کنترل‌های پایین و بالای کیت در محدوده مورد قبول باشد. توصیه می گردد جهت حصول اطمینان از نتایج کیت، علاوه بر کنترل‌های ارائه شده در کیت، به صورت دوره ای از کنترل‌های دقت و صحت تجاری نیز استفاده گردد. بدیهی است نتایج بدست آمده بایستی در محدوده مورد قبول قرائت گردد.

مقادیر طبیعی:

غالباً غلظت فریتین کمتر از 10ng/ml به عنوان سطح هشدار کم‌خونی مرتبط با فقر آهن در نظر گرفته می شود. جهت بررسی انباشتگی آهن سطح هشدار برای مردان و زنان به ترتیب بیش از 400ng/ml و 200ng/ml می‌باشد.

مقادیر نرمال Ferritin درسرم افراد طبیعی که توسط تست های مکرر به روش الایزا به دست آمده به شرح زیر می باشد ولی پیشنهاد می گردد هر آزمایشگاهی مقادیر نرمال بازه مرجع خود را بدست آورد:

محدوده طبیعی (ng/ml)	جنسیت
4.5 - 158.5	زنان قبل از یائسگی
16.5 - 205	زنان بعد از یائسگی
18 - 242.5	مردان

ویژگی های اختصاصی کیت:

حساسیت (Sensitivity):

بر اساس جذب نوری استاندارد صفر و دو برابر انحراف معیار(SD)، حداقل غلظت Ferritin قابل تشخیص در این کیت 2 ng/ml می باشد.

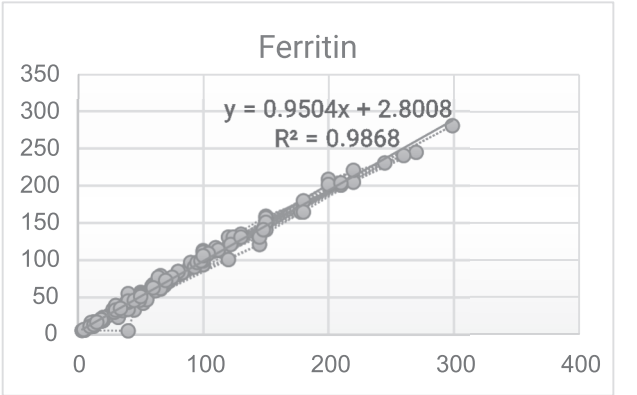
اختصاصیت(Specificity):

اثر تداخلی بیلی روبین تا 20 mg/dl، هموگلوبین تا 500 mg/dl، تری گلیسیرید تا 3000 mg/dl، و فاکتورهای روماتوئید تا 2500 IU/ml در سرم کمتر از 5% می باشد. نمونه سرم با پلاسمای افرادی که سابقه درمان با تشخیص بیماری با مواد حاوی آنتی بادی مونوکلنال موش داشته اند، می تواند حاوی آنتی بادی های انسانی ضد موش (HAMA)باشد. با توجه به غلظت آنتی بادی و مواد بازدارنده مورد استفاده در این کیت، واکنش های تداخلی غیر اختصاصی به حداقل رسیده و تاکنون واکنش مثبت کاذب مشاهده نشده است.

محدوده قابل اندازه گیری غلظت Ferritin با این کیت 2-1000 ng/ml میباشد.

صحت(Accuracy):

جهت بررسی صحت آزمایش، تست همبستگی بر اساس پروتکل CLSI (EP29-A) به طور همزمان بر روی 120 نمونه سرم در سطوح مختلف با روش مرجع (ECL) و کیت Ferritin Gold Medi Test Plus انجام گردید. نتایج این بررسی ها همبستگی حدود 98.6% را نشان می دهد.



دقت (Precision):

شاخص دقت این کیت برمبنای استاندارد CLSI (EP5-A2) ارزیابی گردیده است. بدین منظور میزان Ferritin 3 نمونه با غلظت های مختلف اندازه گیری و انحراف معیار و ضریب تغییرات محاسبه گردید که در جدول زیر آمده است:

Panel Member	Batch	تعداد	میانگین	Within-run Precision	
				SD	%CV
1	1	20	15.63	0.78	5
2	1	20	95.77	1.44	1.5
3	1	20	197.5	2.85	1.44
Panel Member	Batch	تعداد	میانگین	Between-run Precision	
				SD	%CV
1	1	20	14.65	1.61	11
2	1	20	94.4	4.58	4.85
3	1	20	194.4	4.58	2.35

خطی بودن (Linearity):

برای این منظور از استاندارد 1000 ng/ml توسط استاندارد 0، رقت های مختلف تهیه و هر نمونه سه مرتبه تکرار گردید. نتایج به شرح زیر می باشد:

Bias (%)	Recovery (%)	میانگین (ng/ml)	مقدار به دست آمده (ng/ml)			مقدار مورد انتظار (ng/ml)	میزان رقت
NA	NA	0.03	0.05	0.008	0.02	0	0%
-4.7	95.33	9.53	10	9.5	9.1	10	1%
4.6	104.60	52.30	57.1	49.8	50	50	5%
1.2	101.27	101.27	100.4	101.4	102	100	10%
-0.4	99.60	249.00	248	250	249	250	25%
0.2	100.20	501.00	500	501	502	500	50%
-0.1	99.90	999	998	1000	999	1000	100%

تست بازیابی (Recovery Test):

تست بازیابی یا Recovery روشی برای تشخیص خطاهای سیستماتیک مربوط به نمونه و همچنین بررسی پایداری نمونه پس از جمع آوری به کار می رود. یک نمونه عادی یک بار در شرایط اولیه خود و بار دیگر پس از اضافه نمودن غلظت مشخصی از یک آنالیت به نمونه، مورد اندازه‌گیری قرار می‌گیرد. اختلاف بین دو مقدار اضافه شده و اندازه‌گیری شده در محاسبه بازیافت مورد استفاده قرار می‌گیرد.

برای این منظور از استاندارد 1000 ng/ml به عنوان استاندارد پایه استفاده شد و چهار غلظت 10 ng/ml، 100، 500 و 1000 به استاندارد پایه اضافه شد.

مقدار افزوده شده (ng/ml)	مقدار مورد انتظار (ng/ml)	غلظت بازیافت شده (ng/ml)	ریکاوری (%)
10	505	502	99.4
100	550	530	96.36
500	750	775	103.33
1000	1000	1010	101

اثر هوک (Hook effect):

در این کیت تا غلظت 3000ng/ml،اثر هوک دیده نشد.

منابع و مراجع

1-Knovich M.A., et al. Ferritin for the Clinician. Blood Rev. 23(3): 95-104, 2009.

2-Wang W., et al. Serum Ferritin: Past, Present and Future. Biochim Biophys Acta. 1800(8): 760-769, 2010.

3-Victor R. Gordeuk V.R., et al. Serum Ferritin concentrations and body iron stores in a multicenter, multiethnic primary-care population. Am J Hematol. 83(8): 618-626, 2008.

4-Hirochi Saito. Metabolism of iron stores. Nagoya J. Med. Sci. 76: 235 - 254, 2014.

5-Sackett K., et al. Extreme hyper ferritinemia causes and impact on diagnos- tic reasoning. Am J Clin Patho. 145:6462016 ,650-.

6-Kotze MJ., et al. Pathogenic mechanisms underlying iron deficiency and iron overload: new insights for clinical application. JIFCC. 20(2): 1082009 ,123-.

7-Lorcerie B., et al. Diagnosis of hyperferritinemia in routine clinical practice. Presse Med. 46(12): 3292017 ,338-.

8-National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of Stability of in Vitro Diagnostic Reagents; Approved Guideline – First Edition. NCCLS Document EP25-A. 2009.

9-National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline – Second Edition. NCCLS Document EP5-A2. 2004.

10-National Committee for Clinical Laboratory Standards. Establishing and Verifying an Extended Measuring Interval Through Specimen Dilution and Spiking – First Edition. EP34. 2018

خلاصه محتویات اصلی کیت:

از این خلاصه فقط جهت اشاره ای به محتویات کیت استفاده کنید و هنگام انجام آزمایش همیشه از صفحه میسوط روش پیروی نمایید.
توجه: محتویات هر کیت با محتویات شماره ساخت های دیگر قابل تعویض نیست.

پلیت	Microwell Plate	1 x 96 wells
کنترل ها	Control Vials	2 x 0.5 ml
استاندارد ها	Calibration Curve Standards	7 x 0.5 ml
کونژوگه-HRP	HRP-Conjugate	2 x 12 ml
بافر شستشو	Wash Buffer	1 x 30 ml
محلول سوبسترا-رنگزا	TMB Substrate	1 x 12 ml
محلول متوقف کننده واکنش	Stop Solution	1 x 6 ml

خلاصه مراحل انجام آزمایش

افزودن نمونه ها و کنترل ها و استاندارد ها

افزودن کونژوگه-HRP

انکوبه کردن

شستشو

افزودن سوبسترا-رنگزا(TMB)

انکوبه کردن

توقف واکنش

خوانش

نمادها :

	هشدار		شرایط نگهداری 2-8 درجه سلسیوس
	شماره ساخت		تاریخ انقضاء
	دستورالعمل استفاده		تاریخ تولید
	تولیدکننده		محتویات کیت (تعداد)آزمایش
	خطر زیستی		از خوردن و آشامیدن خودداری شود
	شماره کاتالوگ		لیاس محافظت کننده و محافظ چشم پیوشید
			برای استفاده خارج از بدن

شماره بازیابی : 02- 1403

تاریخ انتشار : اردیبهشت ماه 1404

تهران، جاده قدیم کرج، جاده شهریار، بعد از شهرک سعید آباد، حسن آباد خالصه،

مجمع علمی صنعتی عصر انقلاب ، خیابان دانش، خیابان فناوران، نیش خیابان

نانوفناوری، شرکت آریا مینا تشخیص

وب سایت: www.aryamabna.com

ایمیل: info@aryamabna.com

تلفن: 66512800(10 خط)